



IPW  
B 92

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re application of : **Attn: MAIL STOP ISSUE FEE**  
Yoshinori IKETAKI et al. : **Confirmation No. 2053**  
Serial No. 09/814,125 : [Group Art Unit 2872  
Filed March 22, 2001 : Examiner Audrey Y. Chang]  
DOUBLE-RESONANCE-ABSORPTION : **THE COMMISSIONER IS AUTHORIZED**  
MICROSCOPE : **TO CHARGE ANY DEFICIENCY IN THE**  
: **FEEs FOR THIS PAPER TO DEPOSIT**  
: **ACCOUNT NO. 23-0975**

**CLAIM OF PRIORITY UNDER 35 USC 119**

Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

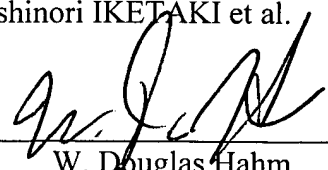
Applicants in the above-entitled application hereby claim the date of priority under the International Convention of Japanese Patent Application No. 2000-082898, filed March 23, 2000, Japanese Patent Application No. 2000-082893, filed March 23, 2000, Japanese Patent Application No. 082890, filed March 23, 2000, Japanese Patent Application No. 2000-082930, filed March 23, 2000, and Japanese Patent Application No. 2000-085368, filed March 24, 2000, as acknowledged in the Declaration of this application.

A certified copy of said Japanese Patent Applications are submitted herewith.

Respectfully submitted,

Yoshinori IKETAKI et al.

By

  
W. Douglas Hahm

Registration No. 44,142  
Attorney for Applicants

WDH/gtg  
Washington, D.C. 2006-1021  
Telephone (202) 721-8200  
Facsimile (202) 721-8250  
October 15, 2004

BEST AVAILABLE COPY

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2000年 3月24日

出 願 番 号

Application Number:

特願2000-085368

出 願 人

Applicant(s):

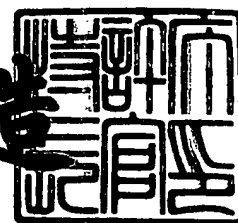
オリンパス光学工業株式会社  
株式会社日本ローパー  
科学技術振興事業団

CERTIFIED COPY OF  
PRIORITY DOCUMENT

2001年 5月25日

特 許 庁 長 官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2001-3045678

【書類名】 特許願

【整理番号】 NP99484-KT

【提出日】 平成12年 3月24日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 G01N 21/64

【発明の名称】 蛍光関連法

【請求項の数】 5

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都青梅市河辺町4-21-5-206

    【氏名】 池滝 慶記

【発明者】

    【住所又は居所】 愛知県岡崎市竜美南2-3-1 6号棟303号

    【氏名】 藤井 正明

【発明者】

    【住所又は居所】 神奈川県横浜市戸塚区平戸5-10-9

    【氏名】 尾松 孝茂

【発明者】

    【住所又は居所】 神奈川県川崎市幸区塚越4-320-4-1209

    【氏名】 佐藤 卓

【特許出願人】

    【識別番号】 000000376

    【氏名又は名称】 オリンパス光学工業株式会社

【特許出願人】

    【住所又は居所】 千葉県千葉市美浜区中瀬1-3

    【氏名又は名称】 株式会社日本ローパー

【特許出願人】

    【識別番号】 396020800

    【氏名又は名称】 科学技術振興事業団

【代理人】

【識別番号】 100093230

【弁理士】

【氏名又は名称】 西澤 利夫

【電話番号】 03-5454-7191

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 009911

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 蛍光相関法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 パルス励起光を試料上に集光しながら、試料に対してパルス励起光を相対的に位置操作して各操作位置における蛍光相関関数を測定する場合において、蛍光発光が存在しない計測時間帯の信号成分を蛍光相関関数から除いて演算することを特徴とする蛍光相関法。

【請求項 2】 試料分子を基底状態から第一電子励起状態へ励起させる波長  $\lambda_1$  のポンプ光の光源と、第一電子励起状態の試料分子を第二電子励起状態またはより高い励起状態へ励起させる波長  $\lambda_2$  のイレース光の光源と、ポンプ光およびイレース光の照射領域を一部分重ね合わせる重ね手段とを備えており、重ね手段を介してポンプ光およびイレース光を試料に照射することにより、第一電子励起状態の試料分子が基底状態へ脱励起する際の発光領域を一部分抑制する二重共鳴吸収顕微鏡において用いられる請求項 1 の蛍光相関法。

【請求項 3】 試料分子を基底状態から第一電子励起状態へ励起させる波長  $\lambda_1$  のポンプ光の光源と、第一電子励起状態の試料分子を第二電子励起状態またはより高い励起状態へ励起させる波長  $\lambda_2$  のイレース光の光源と、ポンプ光およびイレース光の照射領域を一部分重ね合わせる重ね手段とを備えており、重ね手段を介してポンプ光およびイレース光を試料に照射することにより、試料のポンプ光およびイレース光が重なり合った領域からの光応答を検出する二重共鳴吸収顕微鏡において用いられる請求項 1 の蛍光相関法。

【請求項 4】 試料分子を基底状態から一重項状態の第一電子励起状態へ励起させる波長  $\lambda_1$  のポンプ光の光源と、第一電子励起状態の試料分子を一重項状態の第二電子励起状態またはより高い励起状態へ励起させる波長  $\lambda_2$  のプローブ光の光源と、ポンプ光およびプローブ光の照射領域を一部分もしくは全部分重ね合わせる重ね手段とを有しており、重ね手段を介してポンプ光およびプローブ光を試料に照射し、試料のポンプ光およびプローブ光が重なり合った領域から発生する過渡ラマン散乱光を検出する二重共鳴吸収顕微鏡において用いられる請求項 1 の蛍光相関法。

【請求項 5】 試料分子を基底状態から一重項状態の第一電子励起状態へ励起させる波長 $\lambda_1$ のポンプ光の光源と、第一電子励起状態からそれよりも低エネルギーである三重項準位へ遷移した試料分子をその三重項準位よりも高い励起三重項準位へ励起させる波長 $\lambda_3$ のプローブ光の光源と、ポンプ光およびプローブ光の照射領域を一部分もしくは全部分重ね合わせる重ね手段とを有しており、重ね手段を介してポンプ光およびプローブ光を試料に照射し、試料のポンプ光およびプローブ光が重なり合った領域から発生する過渡ラマン散乱光を検出する二重共鳴吸収顕微鏡において用いられる請求項 1 の蛍光相関法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

この出願の発明は、蛍光相関法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

従来より、一分子レベルでの蛍光分析を高感度で行うことのできる蛍光相関法が知られている。この蛍光相関法は、ブラウン運動などの粒子の拡散運動に関する解析に古くから用いられてきた方法である。たとえば、希薄な蛍光分子の溶液に、細いレーザー励起光ビームを当てて、蛍光強度を長時間測定することを考える。測定領域に入っている蛍光分子数を $N$ とすると、蛍光強度は $N$ に比例する。このため、ゆらぎの大きさを $S/N$ で表現すると $(1/N)^{1/2}$ となる。

【0003】

蛍光相関法は、このように蛍光の小さなゆらぎの大きさと、後述する時間相関を測定する方法である。蛍光相関関数が $1/2$ に減少する時間、すなわち相関時間 $\tau_0$ は、次式で表される。

【0004】

【数 1】

$$\tau_0 = \frac{W^2}{4D}$$

【0005】

数1において、Dは蛍光分子の並進拡散係数であり、Wはレーザービームの動径方向の強度分布関数がガウス分布であるときのビーム半径である。物理的には、この $\tau_0$ は蛍光分子が拡散によってレーザービームを横切る時間に相当する。

【0006】

蛍光のゆらぎを測定する際、光電子増倍管の出力電流 $f(t)$ を測定するのであるが、レーザー光が極端に大きくない場合には、蛍光量と $f(t)$ は比例する。実は、蛍光相関関数はこの $f(t)$ について時間に関する相関関数を求めることに他ならない。この相関関数を $G(x)$ と書けば、次式で与えられる。

【0007】

【数2】

$$G(\tau) = \frac{\int_0^T f(t)f(t+\tau)dt}{\int_0^T f(t)f(t)dt}$$

【0008】

もし、レーザー強度がガウス分布に近いときは、

【0009】

【数3】

$$G(\tau) = \frac{1}{N} \cdot \frac{1}{1 + \tau/\tau_0}$$

【0010】

と簡略に表現できる。

【0011】

また、蛍光相関法は、上述したように、蛍光性分子の並進拡散係数（数1におけるD）が得られる物理量を測定するものであるが、基本的には蛍光のゆらぎを与える熱力学量であれば、どんな量でも同じ原理で測定できる。

【0012】

たとえば、蛍光分子の流動によってレーザービームを横切れば、蛍光のゆらぎが観測される。また、化学反応などで蛍光性分子が他の分子と結合することで分子の速度をゆらぎとして観測できる。すなわち、化学反応の進行をリアルタイムで知ることができるのである。また、偏光解析をすることで分子の回転運動をも測定できる。これは自明であるが  $G(\tau)$  の強度から、観察領域に存在する分子数も直接測定できる。具体的には、たとえば図1に例示したように、期待するゆらぎ現象が完結するような特定の計測時間内のゆらぎ関数  $f(t)$  を測定し、その測定した  $f(t)$  から上記数2を用いて相関関数を求めればよい。なお、一般には、励起光源としては、連続発振のアルゴンレーザーやクリプトンレーザーを用いて色素分子の蛍光相関分析を行うのが主流である。

#### 【0013】

図2は、蛍光相関法を用いて蛍光相関分析を行うシステムの代表的な一例を示したものである。この図2に例示したシステムでは、アルゴンレーザー等の連続発振レーザー(201)を励起光源として用い、そのレーザービームを蛍光色素を含有した観察試料溶液(202)にレンズ(203)によって集光照射する。蛍光は、レンズ(203)でコリメートされた後、ビームスプリットミラー(204)で折り返され、再びレンズ(205)で集光される。集光蛍光はピンホール(206)を通過して、光電子増倍管やCCDなどの検出器(207)で検出される。検出された蛍光は、電流として出力され、プリアンプ(208)で増幅させた後、アナログ・デジタル変換器(209)によってデジタルデータに変換される。最後に、このデジタル蛍光信号は時系列データとしてコンピュータ(210)のメモリに取り込まれる。コンピュータ(210)内では、上記数2に従って相関関数  $G(\tau)$  が計算される。

#### 【0014】

#### 【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、上記のと通りの従来の蛍光相関法には、実用上以下のような問題点がある。

#### 【0015】

すなわち、従来の蛍光相関法は、前記数2からもわかるように、計測時間内で



は時間を関数として連続的に変化することを前提にしている。これに対し、励起光源として高繰り返しのパルスレーザーを用いた計測システムにおいては、たとえば図3に例示したように、励起光源の発光が間欠的になり、それに応じて蛍光信号も間欠的なパルス波形として観測されるため、従来の蛍光相関法を利用できないのである。

## 【 0 0 1 6 】

より具体的には、高繰り返しのパルスレーザーを励起光源とした場合、たとえば図3に例示したように、励起パルスが存在せず、且つ蛍光信号も存在しない時間帯  $t_{off}$  が存在する。この時間帯では、単なる検出器の雑音や、外部の迷光といった蛍光分子のゆらぎと全く関係のない信号成分が観測される。このとき数2により蛍光相関をとれば、蛍光現象と全く関係のない信号成分をも含んで積分をしてしまうことになる。極端な場合では、蛍光発光の時間帯  $t_{on}$  が  $t_{off}$  より小さいと、蛍光分子のゆらぎを示す蛍光相関関数を測定しているのではなく、むしろ、光電子像倍管をはじめとする検出器の暗電流のゆらぎを示す蛍光相関関数を計測してしまうことになる。これでは、従来の蛍光相関法はパルスレーザーを励起光源として用いたシステムには適用不可能である。

## 【 0 0 1 7 】

また、この出願の発明の発明者は、高性能かつ多機能な顕微鏡の一つとして、二重共鳴吸収過程あるいはそれと過渡ラマン散乱過程を用いることにより超解像性を実現した顕微鏡（以下、二重共鳴吸収顕微鏡と呼ぶ）をすでに提案しているが、この二重共鳴吸収顕微鏡においても、励起光源としてパルスレーザーを用いることが多く、従来の蛍光相関法は利用できない。

## 【 0 0 1 8 】

まず、二重共鳴吸収過程を用いた二重共鳴吸収顕微鏡（特願平6-329165号、特願平8-302232号、特願平9-255444、特願平10-97924を参照）は、試料分子を基底状態から第一電子励起状態へ励起させる波長  $\lambda_1$  のポンプ光の光源と、第一電子励起状態の試料分子を第二電子励起状態またはより高い励起状態へ励起させる波長  $\lambda_2$  のイレース光の光源と、ポンプ光およびイレース光の照射領域を一部分重ね合わせる重ね手段とを備えており、重ね手

段を介してポンプ光およびイレース光を試料に照射することにより、第一電子励起状態の試料分子が基底状態へ脱励起する際の発光領域を一部分抑制することをその基本構成としている。

## 【 0 0 1 9 】

他方、二重共鳴吸収顕微鏡とともに過渡ラマン散乱過程をも利用した二重共鳴吸収顕微鏡（特願 2 0 0 0 - 8 2 9 3 0 を参照）は、一重項過渡ラマン散乱過程を利用する場合には、試料分子を基底状態から一重項状態の第一電子励起状態へ励起させる波長 $\lambda_1$ のポンプ光の光源と、第一電子励起状態の試料分子を一重項状態の第二電子励起状態またはより高い励起状態へ励起させる波長 $\lambda_2$ のプロープ光の光源と、ポンプ光およびプロープ光の照射領域を一部分もしくは全部分重ね合わせる重ね手段とを有しており、重ね手段を介してポンプ光およびプロープ光を試料に照射し、試料内のポンプ光およびプロープ光が重なり合った領域から発生する過渡ラマン散乱光を検出することをその基本構成としており、また、三重項過渡ラマン散乱過程を利用する場合には、試料分子を基底状態から一重項状態の第一電子励起状態へ励起させる波長 $\lambda_1$ のポンプ光の光源と、第一電子励起状態からそれよりも低エネルギーである三重項準位へ遷移した試料分子をその三重項準位よりも高い励起三重項準位へ励起させる波長 $\lambda_3$ のプロープ光の光源と、ポンプ光およびプロープ光の照射領域を一部分もしくは全部分重ね合わせる重ね手段とを有しており、重ね手段を介してポンプ光およびプロープ光を試料に照射し、試料内のポンプ光およびプロープ光が重なり合った領域から発生する過渡ラマン散乱光を検出することをその基本構成としている。

## 【 0 0 2 0 】

これらの二重共鳴吸収顕微鏡では、たとえば図 4 に例示したように、ポンプ光およびイレース光（あるいは過渡ラマン散乱過程を併用する場合にはプロープ光）を微妙に調整されたタイミングで試料に照射する必要がある、且つ蛍光を抑制するイレース光は非常に強い強度を有することが必要とされる。このため、検出器にいたるまでの光路に然るべきフィルターを設けるようにしても、完全にはポンプ光およびイレース光、特に強度の強いイレース光、の迷光が検出器に入る恐れがある。仮に、観察領域に蛍光分子が 1 つしかない場合には蛍光信号の強度が

迷光信号に対して相対的に弱くなり、蛍光相関を測定しても、所望しない「光源のゆらぎ」を測定してしまう結果となる。

#### 【 0 0 2 1 】

この出願の発明は、以上のとおりの事情に鑑みてなされたものであり、従来技術の問題点を解消し、パルス光源を用いた場合においても蛍光現象のみによる蛍光相関関数を的確に計測することのできる、新しい蛍光相関法を提供することを課題としている。

#### 【 0 0 2 2 】

##### 【課題を解決する手段】

この出願の発明は、上記の課題を解決するものとして、パルス励起光を試料上に集光しながら、試料に対してパルス励起光を相対的に位置操作して各操作位置における蛍光相関関数を測定する場合において、蛍光発光が存在しない計測時間帯の信号成分を蛍光相関関数から除いて演算することを特徴とする蛍光相関法（請求項1）を提供する。

#### 【 0 0 2 3 】

また、この出願の発明は、上記の蛍光相関法が、試料分子を基底状態から第一電子励起状態へ励起させる波長 $\lambda_1$ のポンプ光の光源と、第一電子励起状態の試料分子を第二電子励起状態またはより高い励起状態へ励起させる波長 $\lambda_2$ のイレース光の光源と、ポンプ光およびイレース光の照射領域を一部分重ね合わせる重ね手段とを備えており、重ね手段を介してポンプ光およびイレース光を試料に照射することにより、第一電子励起状態の試料分子が基底状態へ脱励起する際の発光領域を一部分抑制二重共鳴吸収顕微鏡において用いられること（請求項2）や、試料分子を基底状態から第一電子励起状態へ励起させる波長 $\lambda_1$ のポンプ光の光源と、第一電子励起状態の試料分子を第二電子励起状態またはより高い励起状態へ励起させる波長 $\lambda_2$ のイレース光の光源と、ポンプ光およびイレース光の照射領域を一部分重ね合わせる重ね手段とを備えており、重ね手段を介してポンプ光およびイレース光を試料に照射することにより、試料のポンプ光およびイレース光が重なり合った領域からの光応答を検出する二重共鳴吸収顕微鏡において用いられること（請求項3）や、試料分子を基底状態から一重項状態の第一電子励

起状態へ励起させる波長 $\lambda_1$ のポンプ光の光源と、第一電子励起状態の試料分子を一重項状態の第二電子励起状態またはより高い励起状態へ励起させる波長 $\lambda_2$ のプローブ光の光源と、ポンプ光およびプローブ光の照射領域を一部分もしくは全部分重ね合わせる重ね手段とを有しており、重ね手段を介してポンプ光およびプローブ光を試料に照射し、試料のポンプ光およびプローブ光が重なり合った領域から発生する過渡ラマン散乱光を検出する二重共鳴吸収顕微鏡において用いられること（請求項4）や、試料分子を基底状態から一重項状態の第一電子励起状態へ励起させる波長 $\lambda_1$ のポンプ光の光源と、第一電子励起状態からそれよりも低エネルギーである三重項準位へ遷移した試料分子をその三重項準位よりも高い励起三重項準位へ励起させる波長 $\lambda_3$ のプローブ光の光源と、ポンプ光およびプローブ光の照射領域を一部分もしくは全部分重ね合わせる重ね手段とを有しており、重ね手段を介してポンプ光およびプローブ光を試料に照射し、試料のポンプ光およびプローブ光が重なり合った領域から発生する過渡ラマン散乱光を検出する二重共鳴吸収顕微鏡において用いられること（請求項5）をその態様として提供する。

【0024】

【発明の実施の形態】

ここでは、この発明の蛍光相関法の原理について説明する。

【0025】

図5は、この発明の蛍光相関法について説明する図である。この図5において、Pは、周期 $t_{\text{cycle}}$ 、パルス幅 $t_{\text{laser}}$ で発振しているパルスレーザーなどのパルス光源からのパルス励起光（図中ポンプ光と表示）のパルス列であり、パルス状で間欠的に発光している様子を表している。Sは、蛍光信号列であり、パルス光照射に応じて、蛍光寿命 $t_g$ で蛍光分子が発光している様子を表している。Gは、ゲート信号のパルス列であり、周期 $t_{\text{cycle}}$ 、パルス幅 $t_g$ の負極性の信号である。このゲート信号パルス列は、完全に蛍光発光の周期と同期しており、位相ずれを持たず、しかも蛍光寿命の幅と同じパルス幅を有している。

【0026】

図5に例示したように、蛍光信号は無いが、パルスレーザー制御用のゲート信

号のパルスが存在する時間帯  $t_{\text{open}}$  がある。この時間帯  $t_{\text{open}}$  は、全く蛍光信号が存在しないので、計測には全く無関係である。もし、計測時間を  $T$  として、このような状況で蛍光相関関数を従来の蛍光相関法における前記数 2 を用いて求めると、 $t_{\text{open}}$  という無意味な積分区間を含んで計算してしまい、検出器や光源に起因する不要なゆらぎも積分することになってしまう。

【0027】

そこで、この発明の蛍光相関法では、周期的に現れる  $t_{\text{open}}$  という時間帯を積分区間から除くことにより、信号の質を向上する。より具体的には、この発明の蛍光相関法では、次式で与えられる相関関数を用いる。

【0028】

【数 4】

$$G(\tau)^* = \frac{\sum_{j=0}^M \int_{j \cdot t_{\text{cycle}}}^{j \cdot t_{\text{cycle}} + t_g} f(j \cdot t_{\text{cycle}} + t) f(j \cdot t_{\text{cycle}} + \tau + t) dt}{\sum_{j=0}^M \int_{j \cdot t_{\text{cycle}}}^{j \cdot t_{\text{cycle}} + t_g} f(j \cdot t_{\text{cycle}} + t) f(j \cdot t_{\text{cycle}} + t) dt}$$

【0029】

ここで、 $\tau$  は、 $t_{\text{cycle}}$  の整数倍となっており、ある整数  $i$  として、

【0030】

【数 5】

$$\tau = i \cdot t_{\text{cycle}}$$

【0031】

で与えられる。

【0032】

図 6 は、この関係を例示したものである。すなわち、この図 6 に例示したように、量子的に  $t_{\text{cycle}}$  の整数  $i$  倍だけ完全に位相をずらして、蛍光信号  $s(j)$  と  $s(j+1)$  のパルスの積の積分を行い、そして各  $n$  について測定時間に相当する  $j$  全ての和をとれば数 4 の右辺の分子を計算したことになる。分母については、

$s(j)$  と  $s(j+1)$  の積について同じ操作を行えば良い。これにより計算された相関関数  $G(\tau)^*$  は連続的でなく、数 5 が示すように  $t_{\text{cycle}}$  間隔でとびとびの値をとる (図 7 参照)。なお、その包絡線は数 2 の  $G(\tau)$  と同じ物理的な意味をもつことは言うまでもない。

## 【 0 0 3 3 】

したがって、この発明の蛍光相関法によれば、検出器や光源に起因する不要なゆらぎを含むことなく、純粹に蛍光現象に起因したゆらぎのみを検出することができ、高感度・高精度な蛍光分析を実現できるようになる。

## 【 0 0 3 4 】

また、たとえば前述の二重共鳴吸収顕微鏡においてこの発明の蛍光相関法を用いる場合には、パルス光源と検出器に信号を取り込むタイミングを制御するゲートとを同期させ、間欠的に来る蛍光信号を時系列に測定した  $f(t)$  より、ハードウェアまたはソフトウェア的手段を用いて数 4 を基に算出すればよい。

## 【 0 0 3 5 】

この出願の発明は、以上のとおりの特徴を有するものであるが、以下に、添付した図面に沿って実施例を示し、さらに詳しくこの発明の実施の態様について説明する。

## 【 0 0 3 6 】

## 【実施例】

## 【実施例 1】

図 8 は、この発明の蛍光相関法を実現する蛍光相関計測システムの一例を示した概略ブロック図である。

## 【 0 0 3 7 】

この図 8 に例示した蛍光相関計測システムの全系は、基本的にコンピュータ (101) によって制御される。まず、コンピュータ (101) は基準クロックを発生させ、これを基に、パルス光源としてのパルスレーザー (102) の発振、試料 (103) が載置された試料走査ステージ (図示していない) の駆動制御、そして各種データの管理を行う。

## 【 0 0 3 8 】

より具体的には、系のタイミングは全てコンピュータ（１０１）のクロックに準拠しており、このクロックは分周器（１０４）によってレーザー発振可能な周波数まで分周される。まず、分周されたクロック信号は、ゲート&ディレイジェネレータ（１０５）により遅延および波形整形されて、レーザー制御用信号としてのＱスイッチパルスとされ、パルスレーザー（１０２）はこのＱスイッチパルスによって発振制御される。他方、試料（１０３）の試料走査ステージの駆動制御には、パルスレーザー（１０２）のレーザー発振と同期させるために、Ｑスイッチパルスと同期したゲート&ディレイジェネレータ（１０５）からのパルス信号が使われる。またさらに、ゲート&ディレイジェネレータ（１０５）からは、蛍光相関計測に必要となるＱスイッチパルスと同期したゲート信号であるゲートパルスが、後述するラインセクター（１０８）に与えられる。

## 【 0 0 3 9 】

さて、Ｑスイッチパルスに従って発振されたパルスレーザー（１０２）からのパルスレーザー光は種々の光学系を介して試料（１０３）に集光照射され、パルスレーザー光のショット毎に試料（１０３）から蛍光が発生する。

## 【 0 0 4 0 】

このショット毎の蛍光は、検出器（１０６）で検出される。検出器（１０６）としては、たとえば、回折光子などの分光器およびＩＣＣＤカメラを基本構成としたものを用いることができる。ＩＣＣＤカメラは、マイクロチャンネルプレートの前側および後側それぞれに光電子変換器面を備えたことを基本構成としており、入射した光を前側の光電子変換面によって電子に変換し、マイクロチャンネルプレートでその電子を増幅した後、増幅電子を再度後側の光電変換面で光に変換する装置である。回折格子などの分光器はこのＩＣＣＤカメラの入力側前方に配置されている。この場合、ショット毎の蛍光は、検出器（１０６）において、分光器で分光された後、ＩＣＣＤカメラにより蛍光スペクトルとして検出される。そして、その蛍光波長領域の総光量はＩＣＣＤカメラからアナログ信号として出力され、このアナログ信号はプリアンプ（１０７）で増幅された後、ラインセクター（１０８）へ入力される。

## 【 0 0 4 1 】

ラインセレクター（108）は、独立に入力される2つのアナログ信号に対して、各々のパルスゲート信号の極性に従ってどちらか一方を通過させるものである。本実施例では、ラインセレクター（108）には、プリアンプ（107）を介したアナログ蛍光信号が入力されるとともに、前述したようにゲート&ディレイジェネレータ（105）からのゲートパルスも入力される。そして、ラインセレクター（108）は、ゲートパルスが負レベルの場合にはプリアンプ（107）からの蛍光信号を通過させ、ゲートパルスが正レベルの場合にはグランドレベルすなわちゼロレベルの信号を出力する。パルスレーザー（102）は、ゲートパルスの立ち下がりで発振し、そのパルス幅が丁度プリアンプ（107）からの出力信号の時間幅をもつので、パルス幅の間である蛍光発光した時間だけ、蛍光信号がラインセレクター（108）を通過することとなる。これは、前述の図5に対応するものであり、実効的に蛍光信号のみがラインセレクター（108）を通過する。

#### 【0042】

そして、もともとゲートパルスは、コンピュータ（101）のシステムクロックを分周して生成したものであり、ゲートパルスのパルス周波数はシステムクロックの整数分の1になっているので、このシステムクロックの周波数で、ラインセレクター（108）の出力信号をサンプリングする。

#### 【0043】

システムクロックは同時にカウンタ（111）を駆動し、その出力バイナリ信号はラインメモリ（110）のメモリアドレスを与える。このメモリアドレス信号と同期して、A/D変換器（109）によりデジタル化された蛍光信号は、ラインメモリ（110）に格納される。このデータ転送操作により、ある特定の観察領域をレーザー照射したときの蛍光相関関数を求めるのに必要な観測時間分の全データが、ラインメモリ（110）に格納することになる。

#### 【0044】

そして、ラインメモリ（110）に格納されたデータは、I/Oポート（112）を介して、コンピュータ（101）の要求するタイミングで、コンピュータ（101）内のメモリに転送される。



## 【 0 0 4 5 】

以上の手順を繰り返しながら、試料走査ステージの移動およびレーザー発光と同期しながら、各画素ごとの蛍光相関関数を計算するためのデータがコンピュータ（101）のメモリに転送される。

## 【 0 0 4 6 】

コンピュータ（101）のメモリに記憶された蛍光スペクトルデータは、コンピュータの数値演算処理により、各画素ごとの蛍光相関関数に変換される。

## 【 0 0 4 7 】

なお、この蛍光相関計測システムは、たとえば、水銀ランプなどの照射で得られる試料（103）の蛍光画像を同時にCCDカメラでモニターし、その画像データを随時フレームメモリーに蓄積できる構成を有していてもよく、この場合では、2次元走査画像とは別に、随時、試料（103）の蛍光像の全体をモニターしておくことができる。この他、コンピュータ（101）は画像表示や画像処理を随時行い、形成された画像データは、ディスプレイ（113）やビデオプリンター（114）などの出力手段により出力される。

## 【 0 0 4 8 】

ここで、蛍光信号が如何にしてラインメモリ（110）に格納されるかを、図9を用いてさらに説明する。図9は、レーザーショット毎のS（n）番目からS（n+1）番目のパルス列の蛍光信号がラインメモリ（110）に入力される場合のタイムチャートを示している。なお、図9では、この発明の蛍光相関法を、二重共鳴吸収過程あるいはそれと過渡ラマン散乱過程を利用した二重共鳴吸収顕微鏡に適用する場合を考えて、パルスレーザー（102）からのレーザー光を用いてポンプ光およびイレース光（二重共鳴吸収過程と過渡ラマン散乱過程とを併用する場合にはプローブ光）の2波長光を発生させるものとする。二重共鳴吸収顕微鏡については、特願平6-329165号、特願平8-302232号、特願平9-255444、特願平10-97924、特願2000-82930を参照されたい。

## 【 0 0 4 9 】

さて、この図9において、メモリアクセスクロックはコンピュータ（101）

のシステムクロックに相当し、そのタイミングでラインメモリ（１１０）のアドレスがカウンタ（１１１）より出力される。クロック信号は、前述したように分周器（１０４）およびゲート&ディレイジェネレータ（１０５）を介してゲートパルス（図９中ゲート信号と記載）およびＱスイッチパルスに変換される。ラインセレクター（１０８）を制御するゲートパルスは、蛍光信号パルスの時間幅  $t_g$  だけ負レベルになり、蛍光信号が存在しない  $t_{open}$  の間は正レベルになる。ポンプ光およびイレース光のパルスは、時間幅  $t_{cycle}$  で周期的に発振する。当然、蛍光信号およびゲートパルスも  $t_{cycle}$  の周期で出力される。ここで、各時間幅には、 $t_{cycle} = t_g + t_{open}$  の関係がある。

## 【 0 0 5 0 】

図９を、別の時間系列の関係から説明する。まず、メモリークロックを分周したＱスイッチパルスによりポンプ光パルスが発振される。続いて、光路分だけ遅延したイレース光が発振される。これらポンプ光・イレース光パルスによって、時間幅  $t_g$  を持った蛍光信号  $S(n)$  がプリアンプ（１０７）から出力される。ゲートパルスもレーザー駆動の周期に、つまりＱスイッチパルスの周期に完全同期をしているが、ポンプ光およびイレース光が発振終了後に、多少遅延してゲートパルスは負レベルになり（図中の  $g(n)$ ）、その後  $t_g$  間その状態が持続する。続いて、ゲートパルスは正レベルとなって  $t_{open}$  の間この状態が続く。ゲートパルスは、蛍光相関を求めるのに十分な時間  $T$  に渡って、 $t_{cycle}$  でこの変化を繰り返す。このような操作により、ラインセレクター（１０８）は、 $S(n)$  が存在するときの信号をＡ／Ｄ変換器（１０９）に送り込み、それ以外の時間帯はゼロレベルのグランド電圧の信号を送り込む。

## 【 0 0 5 1 】

これにより、検出器（１０６）のゆらぎに起因する信号やレーザー散乱光などは、ラインセレクター（１０８）からは出力されず、Ａ／Ｄ変換器（１０９）には入力されないこととなる。

## 【 0 0 5 2 】

Ａ／Ｄ変換を行う時のサンプリングのタイミングは、コンピュータ（１０１）が供給するシステムクロックのタイミングであり、そのタイミングでラインメモ

リ (1 1 0) の特定の番地にデータが書き込まれる。この時の大前提として、ゲートパルスの周波数は、システムクロックの周波数よりも低く、最低限レーザー 1 ショットで、蛍光信号  $S(n)$  が 1 個分のデジタルデータが得られなくてはならない。図 9 では、 $t_{\text{cycle}}$  の区間を  $(g+h)$  分のデータサンプルリングを行っている。そのうち、 $g$  個は有効信号蛍光  $S(n)$  をサンプリングして、 $h$  個は実質的に蛍光相関に関係しないゼロレベルの信号をサンプリングする。当然サンプリング周波数は、レーザーの繰り返し周波数の  $(g+h)$  となる。言い換えると、レーザーの駆動パルス、つまり Q スイッチパルスはシステムクロックを  $1/(g+h)$  に分周したものである。図 9 によれば、カウンタ (1 1 1) で指定されたアドレスに従って、 $n(g+h)$  番地から  $n(g+h)+g$  番地までデジタル化された  $S(n)$  のデータが格納され、 $n(g+h)+g+1$  番地から  $(1+n)(g+h)$  までは無効のゼロ信号が存在する。このようにして、ラインメモリ (1 1 0) 内には、1 番地から最終番地まで  $S(1)$  から  $S(M)$  までの蛍光信号のデータが格納されることとなる。

### 【 0 0 5 3 】

このようにして、観測期間  $T$  の間に計測した  $S(1)$  から  $S(M)$  までの蛍光信号のデータから、1 測定点における蛍光相関関数を求めることができる。具体的には、ラインメモリ (1 1 0) にあるデータを、いったん I/O ボード (1 1 2) を介して、コンピュータ (1 0 1) 内のメモリに転送する。その結果として、全体で  $M(g+h)$  個のデジタルデータが、コンピュータ (1 0 1) 内のメモリに存在する。仮に、このデータ群に  $D(I)$  という配列名を与え、 $D(1)$  から  $D(M(g+h))$  を具体的なデータとして、蛍光相関関数  $G(\tau)^*$  の計算に用いる。この場合、蛍光データは  $S(n)$  間欠的に存在するので、 $\tau$  も離散的な値をとり、レーザーの繰り返し間隔に相当する、 $(g+h)$  の整数倍の値しか取らない。仮に、その整数の標識を  $k$  と書くと、 $k$  は 1 から  $M$  までの整数をとる。したがって、コンピュータ (1 0 1) 内で数値計算をするときは  $G(k)^*$  という離散的な配列群として与えられる。数 4 に従い、以下の数 6 で与えられる積分計算を行えば、観測期間内での蛍光相関関数  $G(k)^*$  を各観測ポイントで求めることができる。ここで、数 4 の積分は、不連続な関数となるので和の形移行する

【0054】

【数6】

$$G(k)^* = \frac{\sum_{j=1}^{M-K} \sum_{i=j(g+h)}^{j(g+h)+g} D(i+k(h+g))D(i)}{\sum_{j=1}^M \sum_{i=j(g+h)}^{j(g+h)+g} D(i)D(i)}$$

【0055】

この数6は演算方式で不要な積分時間帯を省いたものである。したがって、原理的にはラインセレクター（108）を通さなくても相関関数を計算できることにもなる。また、図9のメモリの格納状態を見ると、 $t_{open}$ の区間はラインメモリ（110）にはゼロの値が入っているので、数6のように積算区間を考慮した2重和算は必ずしも行わなくてもよく、下記の数7のように簡略化された演算でもよい。

【0056】

【数7】

$$G(k)^* = \frac{\sum_{i=1}^{(M-K)(h+g)} D(i+k(h+g))D(i)}{\sum_{i=1}^{M(h+g)} D(i)D(i)}$$

【0057】

この数7によれば、和算操作が一回なので、演算処理が簡単であり、演算アルゴリズムやハードウェアの設計を簡略化できる。

【0058】

なお、原理的には、蛍光信号のパルス列  $S(n)$  のデータが存在するメモリアドレスを対応させることができれば、図2に例示したシステムでも、上述したこ

の発明の蛍光相関法を適用することができる。

【0059】

以上のように、この発明の蛍光相関法によれば、間欠的な蛍光信号間で、全く蛍光信号成分の無い区間のデータ成分を除いて蛍光相関関数を求めるので、精度良く蛍光分子ゆらぎ以外の成分を除去することができる。したがって、蛍光分子ゆらぎのみに起因する蛍光相関関数を測定し、得られた蛍光相関関数を解析することで、試料(103)からの蛍光分子の移動速度や、粘度、分子数といった各物理量を高精度で求めることができる。またさらに、コンピュータ(110)のメモリ上で2次元再配列することで、多角的に試料(103)の2次元画像を形成することもできる。すなわち、この発明の蛍光相関法は、励起光源としてパルス光源を用いた場合においても、蛍光相関計測による優れた蛍光分析を実現できるのである。

【0060】

[実施例2]

図10は、二重共鳴吸収顕微鏡の一例を示した概略図である。この図10に例示した二重共鳴吸収顕微鏡は、特願2000-82930に開示されている二重共鳴吸収過程および過渡ラマン散乱過程を併用した二重共鳴吸収顕微鏡と同じものである。この場合、Nd:YAGレーザー(1)がポンプ光およびプローブ光の光源、つまりパルス光源であり、前述したと同様に、この発明の蛍光相関法によって、蛍光分子ゆらぎのみに起因する蛍光相関関数を測定し、優れた蛍光分析を実現することができる。

【0061】

もちろん、二重共鳴吸収過程のみを利用した二重共鳴吸収顕微鏡においても同様な効果を実現することができる。

【0062】

したがって、この発明の蛍光相関法を、ポンプおよびイレーズ光もしくはプローブ光の光源としてパルス光源を備えた二重共鳴吸収顕微鏡において用いれば、二重共鳴吸収顕微鏡の特徴である超解像性の実現(たとえば空間分解を数10nmで画像化)とともに、蛍光相関関数による様々な物理量の分析および2次元マ

アップ化をも可能となるのである。

【0063】

以下に、図10の二重共鳴吸収顕微鏡の説明をしておく。

【0064】

まず、Nd:YAGレーザー(1)の基本波をKDP結晶(2)で波長変換することで532nm、355nm、266nm等の高次高調波を発振させる。これらの光をさらにオプティカルパラメトリクジェネレーター(5)によって観察対象の試料分子を $S_0 \rightarrow S_1$ 励起可能な波長 $\lambda_1$ に変換し、これをポンプ光とする。

【0065】

また、ハーフミラー(3)により2倍高調波の1部を取り出し、ハーフミラー(4)を介して別のオプティカルパラメトリクジェネレーター(6)へ入射させ、試料分子を $S_1 \rightarrow S_2$ 励起可能な波長 $\lambda_2$ または $T_1 \rightarrow T_2$ 励起可能な波長 $\lambda_3$ に変換し、これを一重項用プローブ光または三重項用プローブ光とする。これらプローブ光は、遅延光学系(7)により、パルスポンプ光と適当な時間差を得るために光学遅延される。時間差は、遅延光学系(7)に搭載されたプリズム(71)の平行移動で簡単に調節できる。具体的には、照射時間調整手段としての遅延光学系(7)の光路調整による光学遅延によって、波長 $\lambda_2$ の一重項用プローブ光は、ポンプ光の照射後、試料分子が一重項状態の第一電子励起状態 $S_1$ から三重項準位 $T_1$ へ遷移する前に試料面へ到達するように照射され、他方、波長 $\lambda_3$ の三重項用プローブ光は、ポンプ光の照射後、試料分子が一重項状態の第一電子励起状態 $S_1$ から三重項準位 $T_1$ へ遷移した後に試料面へ到達するように照射される。

【0066】

このように照射時間調整されるプローブ光は、その光路上の偏光子(9)および揺動ミラー(10)を介してダイクロイックミラー(11)へ入射され、ポンプ光は、その光路上の偏光子(8)を介してダイクロイックミラー(11)へ入射される。両光は、ダイクロイックミラー(11)によって同一光路とされる。偏光状態可変手段としての偏光子(8)および(9)は、ポンプ光およびプローブ光の偏光面を自由に回転できる。

## 【 0 0 6 7 】

さらに、本実施例では、重ね手段としての振動ミラー（10）によって、プローブ光の光路をポンプ光に対して調整することで、集光面上で互いの照射領域を一部分重ね合わせることができる。もちろん両光の照射領域の全部分を重ね合わせるようにしてもよいが、平面分解能をより優れたものとするには、一部分のみを重ね合わせ、且つその重合せ領域を狭くする方が望ましい。

## 【 0 0 6 8 】

このように照射領域および照射時間が調整されるポンプ光およびプローブ光は、リレーレンズ（12）により成形されて、ハーフミラー（13）へ入射され、対物レンズ（14）を通り試料（15）上へ集光される。試料（15）は試料走査ステージ（16）上に設置されている。

## 【 0 0 6 9 】

ポンプ光の照射後に、一重項用プローブ光が照射された場合には一重項過渡ラマン散乱光が試料（15）から発生し、三重項用プローブ光が照射された場合には三重項過渡ラマン散乱光が試料（15）から発生する。

## 【 0 0 7 0 】

これら過渡ラマン散乱光は、ハーフミラー（13）を通過し、ハーフミラー（17）で反射されて、検出光学系に入射される。本実施例における検出光学系は、偏光子（18）、レンズ（19）、ピンホール（20）、レンズ（21）、透過型回折格子（22）、およびICCDカメラ（23）で構成されている。この場合、過渡ラマン散乱光は、偏光子（18）を介してレンズ（19）によってピンホール（20）の中央に集光され、さらにレンズ（21）によって透過型回折格子（22）を介して光電子変換原理を用いた高感度のICCDカメラ（23）へ入射される。ピンホール（20）は空間フィルターとして機能し、試料（15）以外から発する、たとえば光学系からの蛍光等をカットして測定のス／N比をより高めることができる。また、透過型回折格子（22）はスペクトルメーターとして機能するので、過渡ラマン散乱光の測定はもちろんのこと、ラマンスペクトルやレーザー照射に対する時間応答をも測定できるので、試料（15）の化学構造や組成の解析が可能となる。さらにまた、偏光子（8）（9）によってポンプ

光およびプローブ光の偏光面を相対的に変化させることで、試料（１５）の組成の空間配向情報も得られる。

#### 【００７１】

このように図１０に例示した二重共鳴吸収顕微鏡は、過渡ラマン散乱光の測定によって極めて優れた平面分解能および三次元分解能を有する、高機能分析型の超解像顕微鏡を実現している。そして、これに前述したこの発明の蛍光相関法を用いることで、さらに様々な蛍光分析が可能となるのである。

#### 【００７２】

なお、過渡ラマン散乱過程を利用した二重共鳴吸収顕微鏡は、試料のポンプ光およびイレース光が重なり合った領域からの過渡ラマン散乱光を検出するものであるが、試料のポンプ光およびイレース光が重なり合った領域から検出できる信号は過渡ラマン散乱光に限らず、他にも分子によっては第二電子励起状態より蛍光を発光する場合もある。このように両光の重ね領域からの光応答を検出する二重共鳴吸収顕微鏡においても、この発明の蛍光相関法を用いることができるのは言うまでもない。

#### 【００７３】

もちろん、この発明は以上の例に限定されるものではなく、細部については様々な態様が可能である。

#### 【００７４】

##### 【発明の効果】

以上詳しく説明した通り、この出願の発明は、パルス光源を用いた場合においても蛍光現象のみによる蛍光相関関数を的確に計測することのできる、新しい蛍光相関法を提供する。

##### 【図面の簡単な説明】

##### 【図１】

従来の蛍光相関法を説明する図である。

##### 【図２】

従来の蛍光相関法を用いて蛍光相関分析を行うシステムの代表的な一例を示した概略図である。



【図 3】

パルスレーザーを励起光源として用いた計測システムにおけるポンプ光と蛍光信号との時間関係を例示した図である。

【図 4】

二重共鳴吸収顕微鏡におけるポンプ光・イレース光と蛍光信号との時間関係を例示した図である。

【図 5】

この発明の蛍光相関法の原理について説明する図である。

【図 6】

この発明の蛍光相関法の原理について説明する別の図である。

【図 7】

この発明の蛍光相関法の原理について説明するさらに別の図である。

【図 8】

この発明の蛍光相関法を実現する蛍光相関計測システムの一例を示したブロック概略図である。

【図 9】

図 8 の蛍光相関計測システムにおけるレーザーショット毎の  $S(n)$  番目から  $S(n+1)$  番目のパルス列の蛍光信号がラインメモリ (1 1 0) に入力される場合のタイムチャートを例示した図である。

【図 1 0】

二重共鳴吸収顕微鏡の一例を示した概略図である。

【符号の説明】

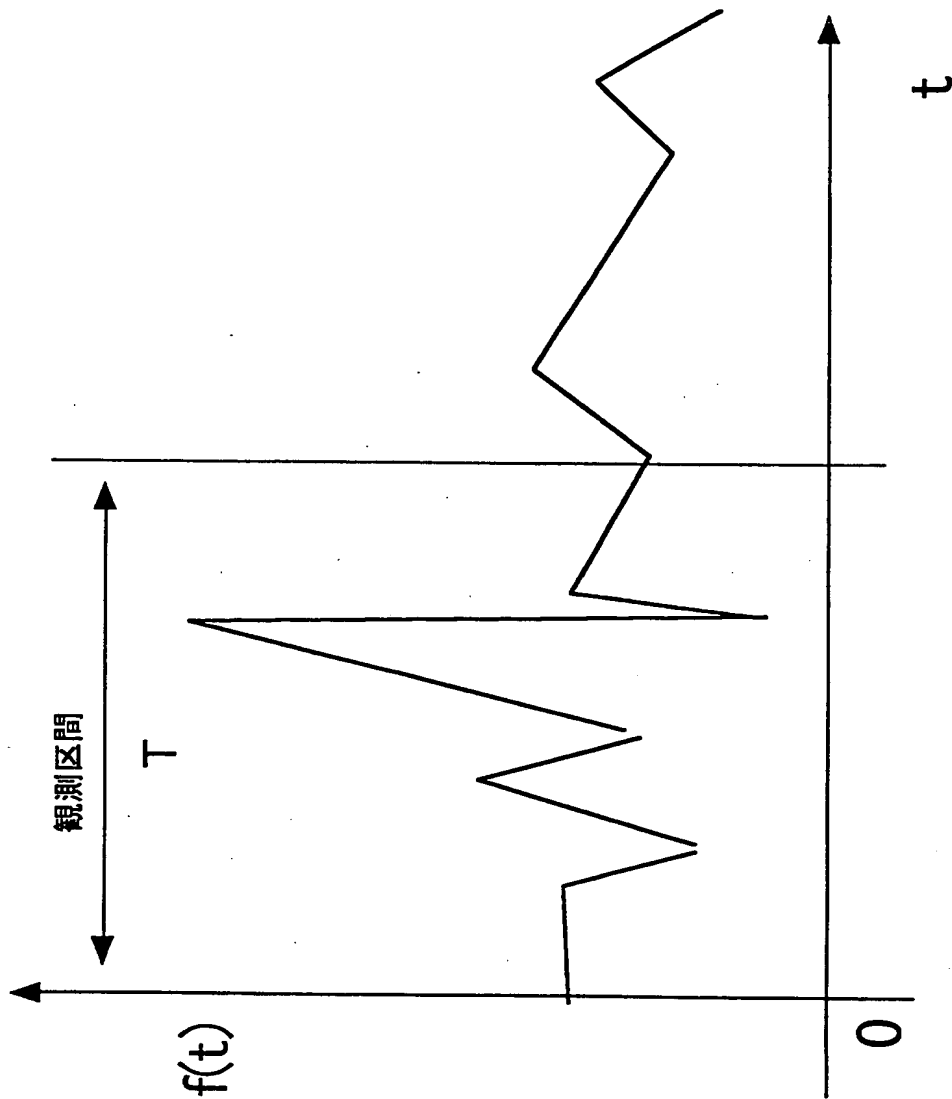
- 1 0 1 コンピュータ
- 1 0 2 パルスレーザー
- 1 0 3 試料
- 1 0 4 分周器
- 1 0 5 ゲート&ディレイジェネレータ
- 1 0 6 検出器
- 1 0 7 プリアンプ

- 108 ラインセレクター
- 109 A/D変換器
- 110 ラインメモリ
- 111 カウンター
- 112 I/Oボード
- 113 ディスプレイ
- 114 ビデオプリンタ
- 201 連続発振レーザー
- 202 観察試料溶液
- 203 レンズ
- 204 ビームスプリットミラー
- 205 レンズ
- 206 ピンホール
- 207 検出器
- 208 プリアンプ
- 209 アナログ・デジタル変換器
- 210 コンピュータ
- 1 Nd:YAGレーザー
- 2 KDP結晶
- 3, 4 ハーフミラー
- 5, 6 オプティカルパラメトリックジェネレーター
- 7 遅延光学系
- 71 プリズム
- 8, 9 偏光子
- 10 揺動ミラー
- 11 ダイクロイックミラー
- 12 リレーレンズ
- 13 ハーフミラー
- 14 対物レンズ

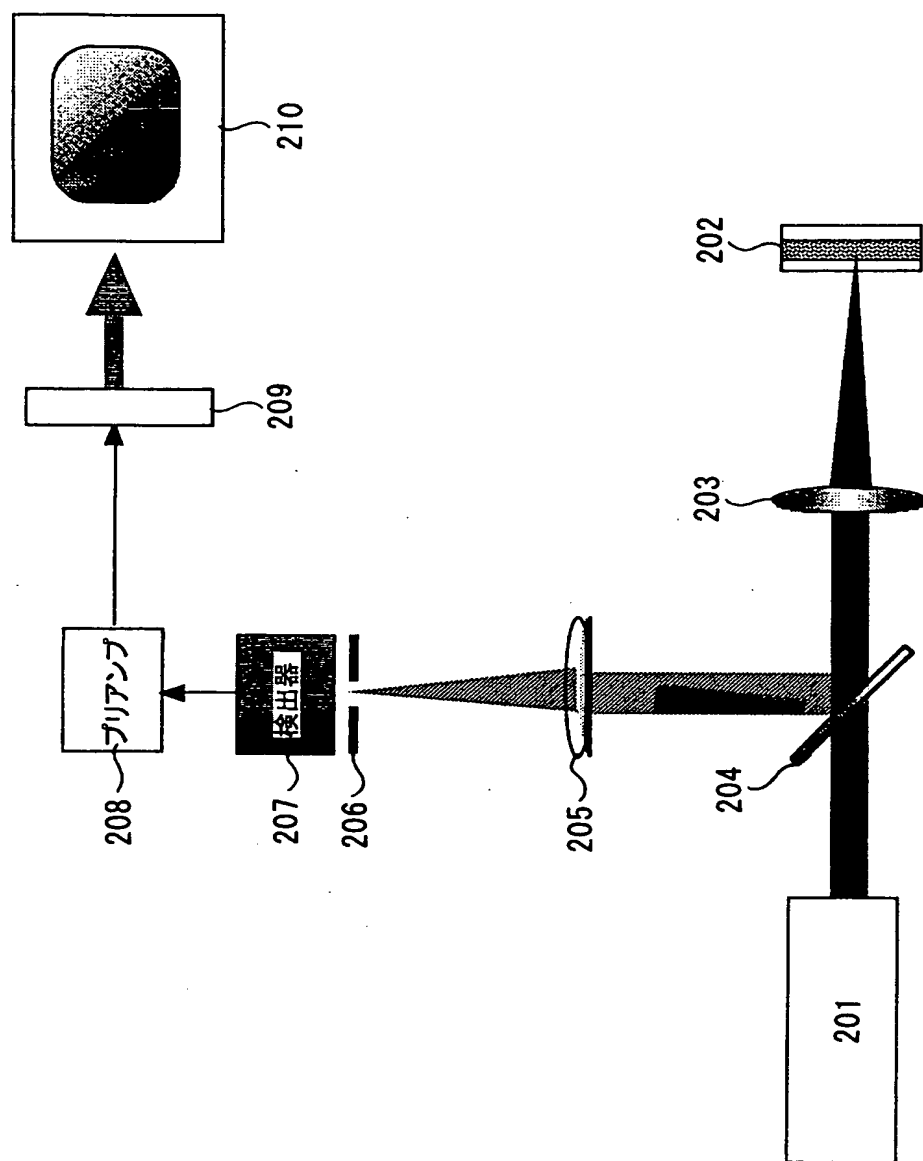
- 1 5 試料
- 1 6 試料走査ステージ
- 1 7 反射ミラー
- 1 8 偏光子
- 1 9, 2 1 レンズ
- 2 0 ピンホール
- 2 2 透過型回折光子
- 2 3 I C C Dカメラ

【書類名】 図面

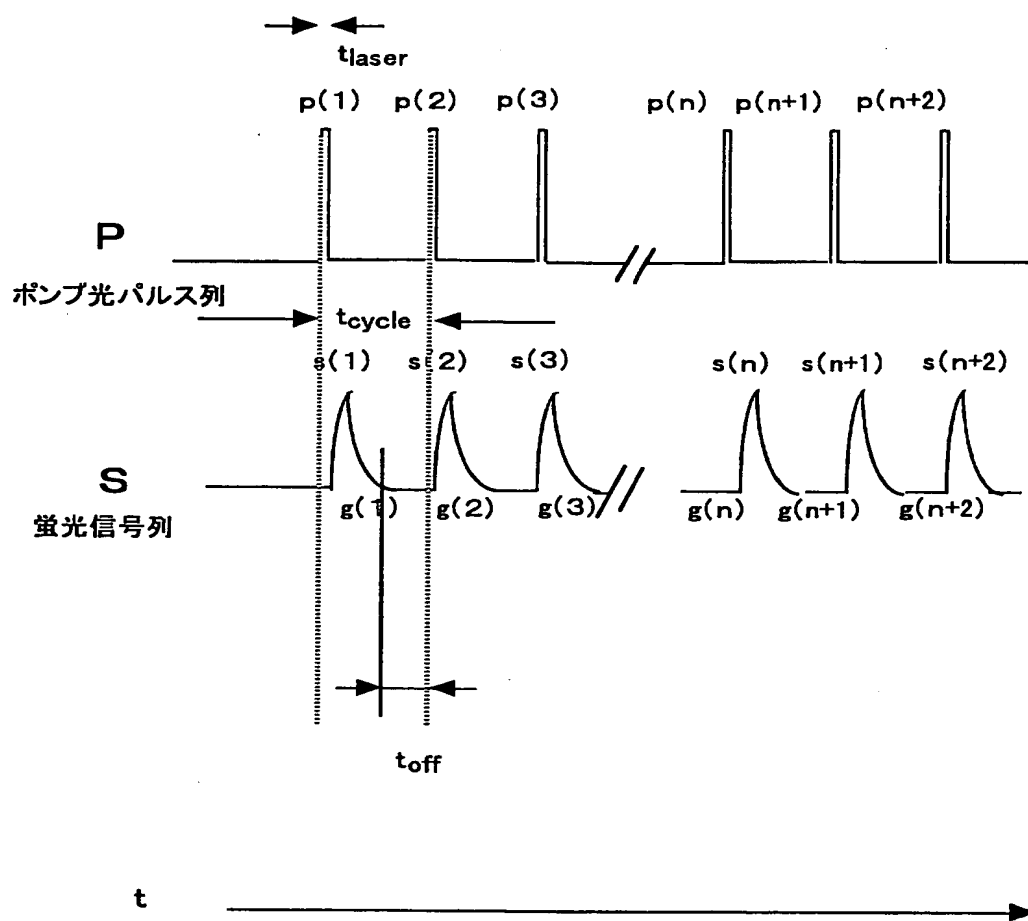
【図1】



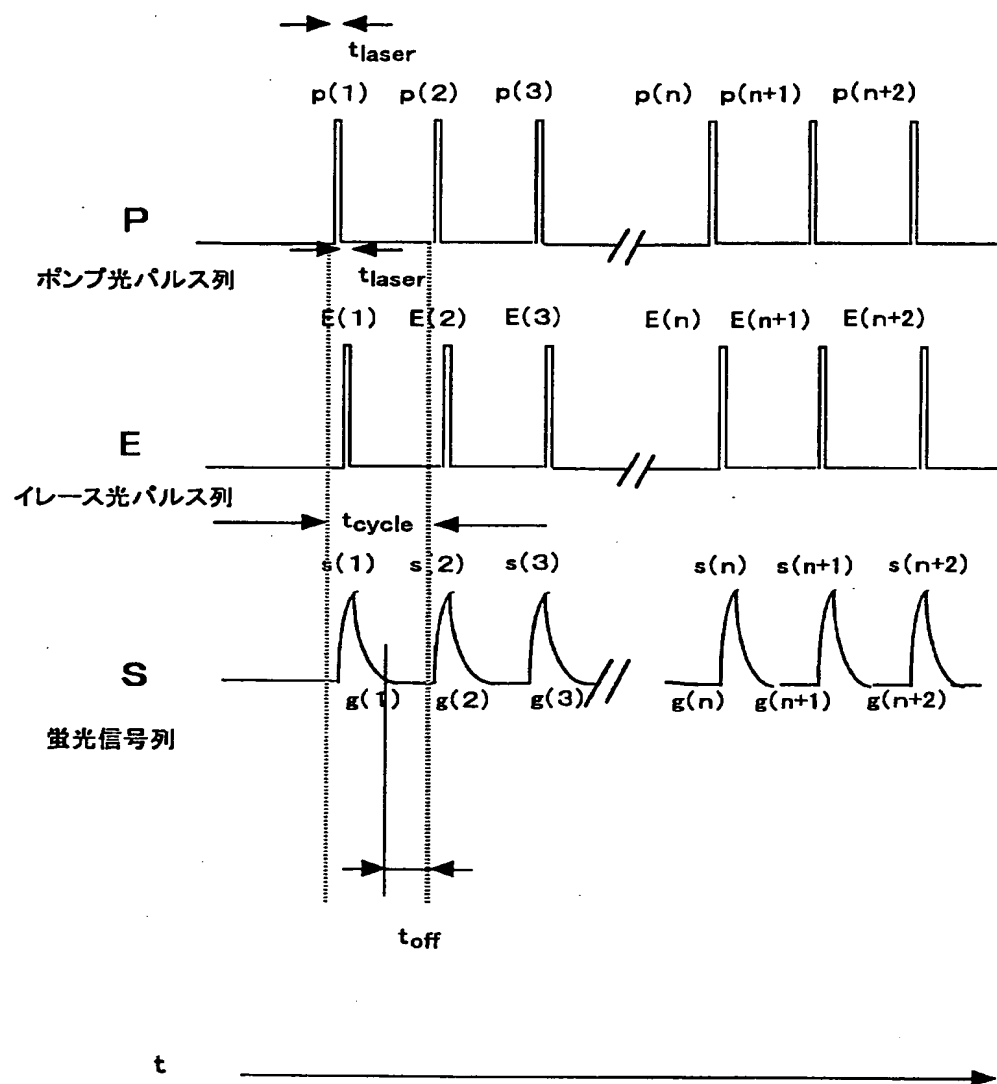
【図 2】



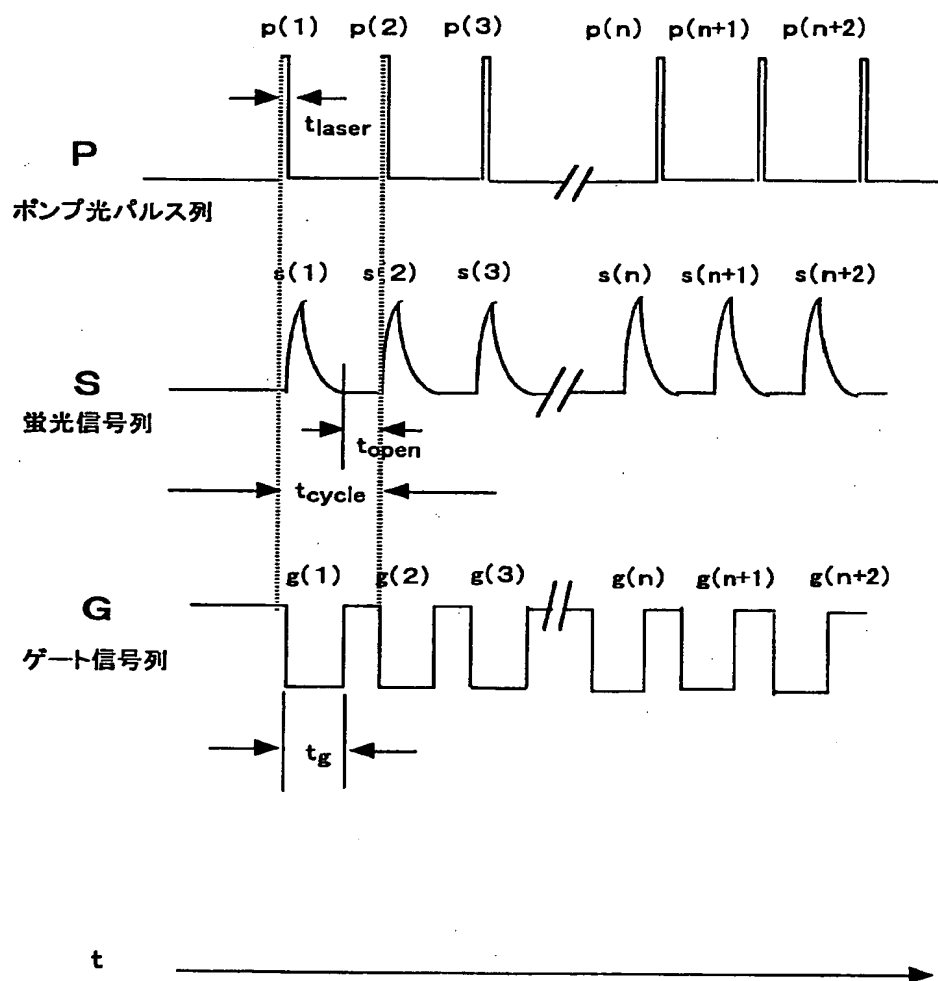
【図 3】



【図 4】

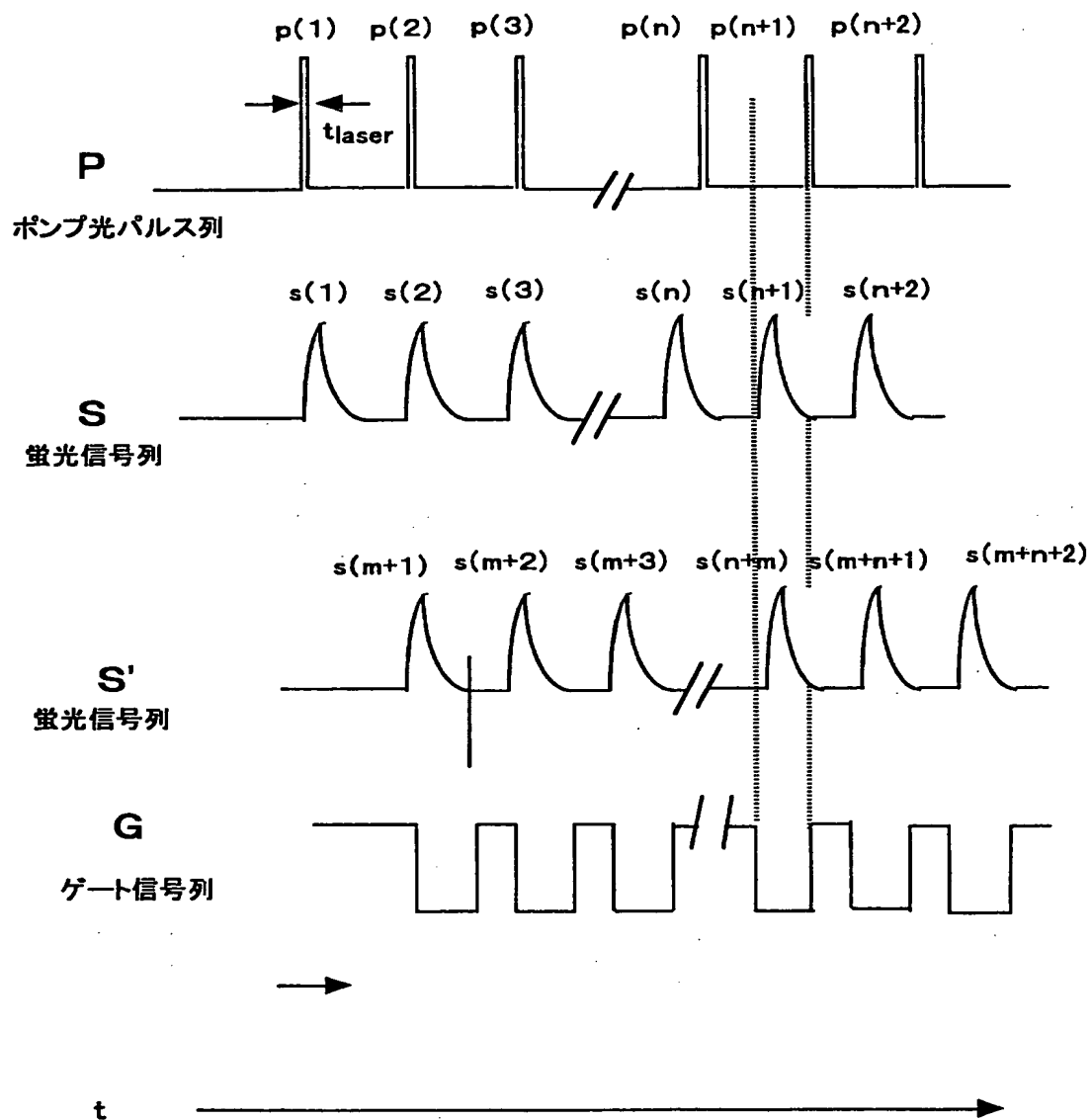


【図 5】

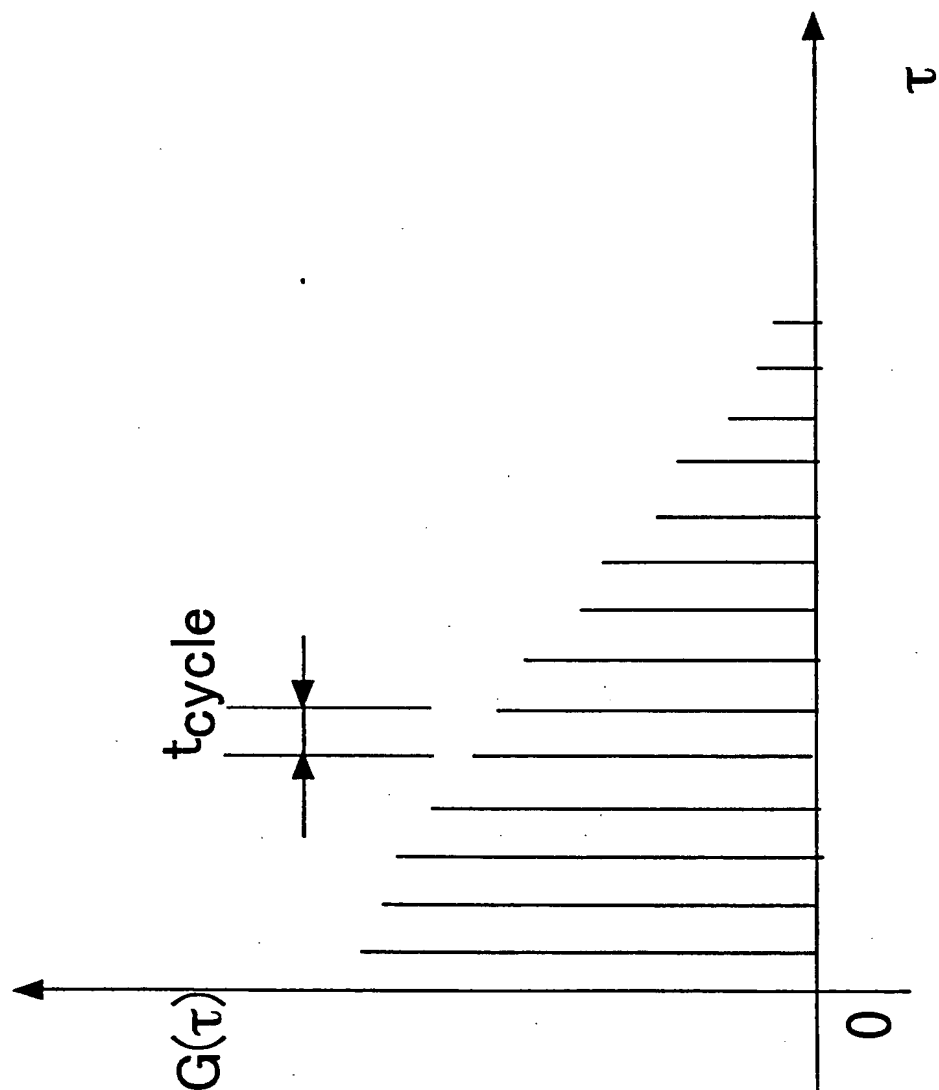




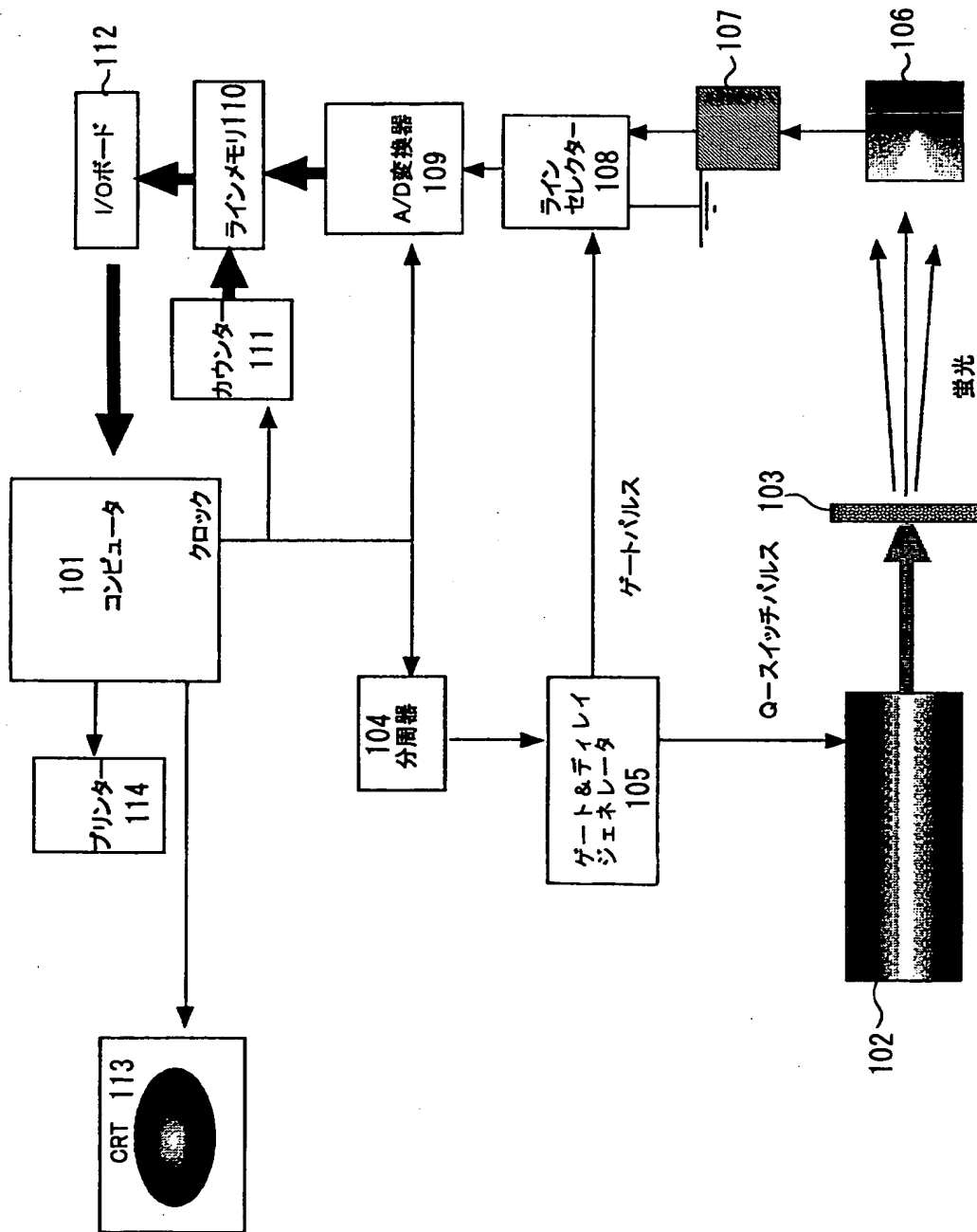
【図 6】



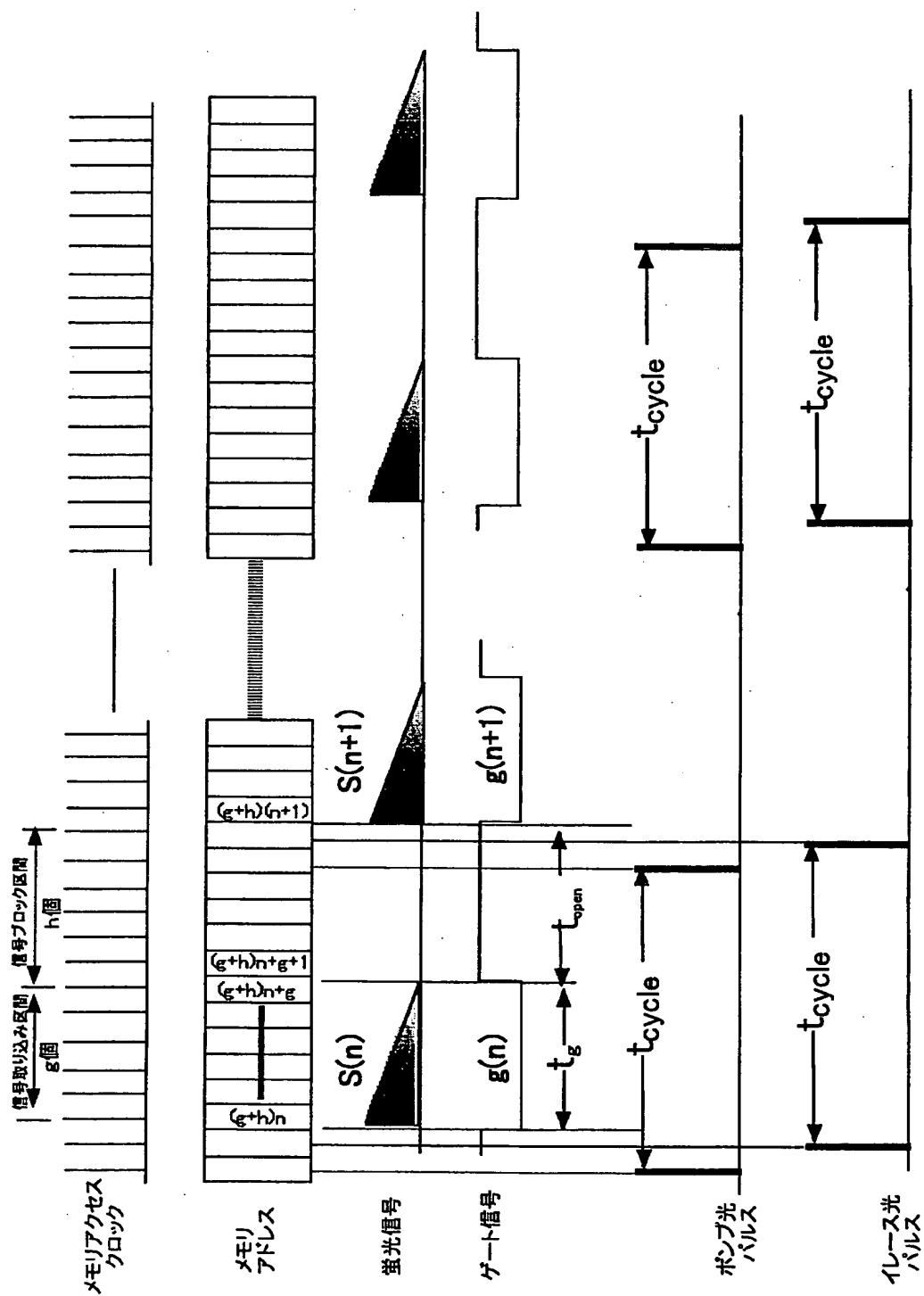
【図 7】



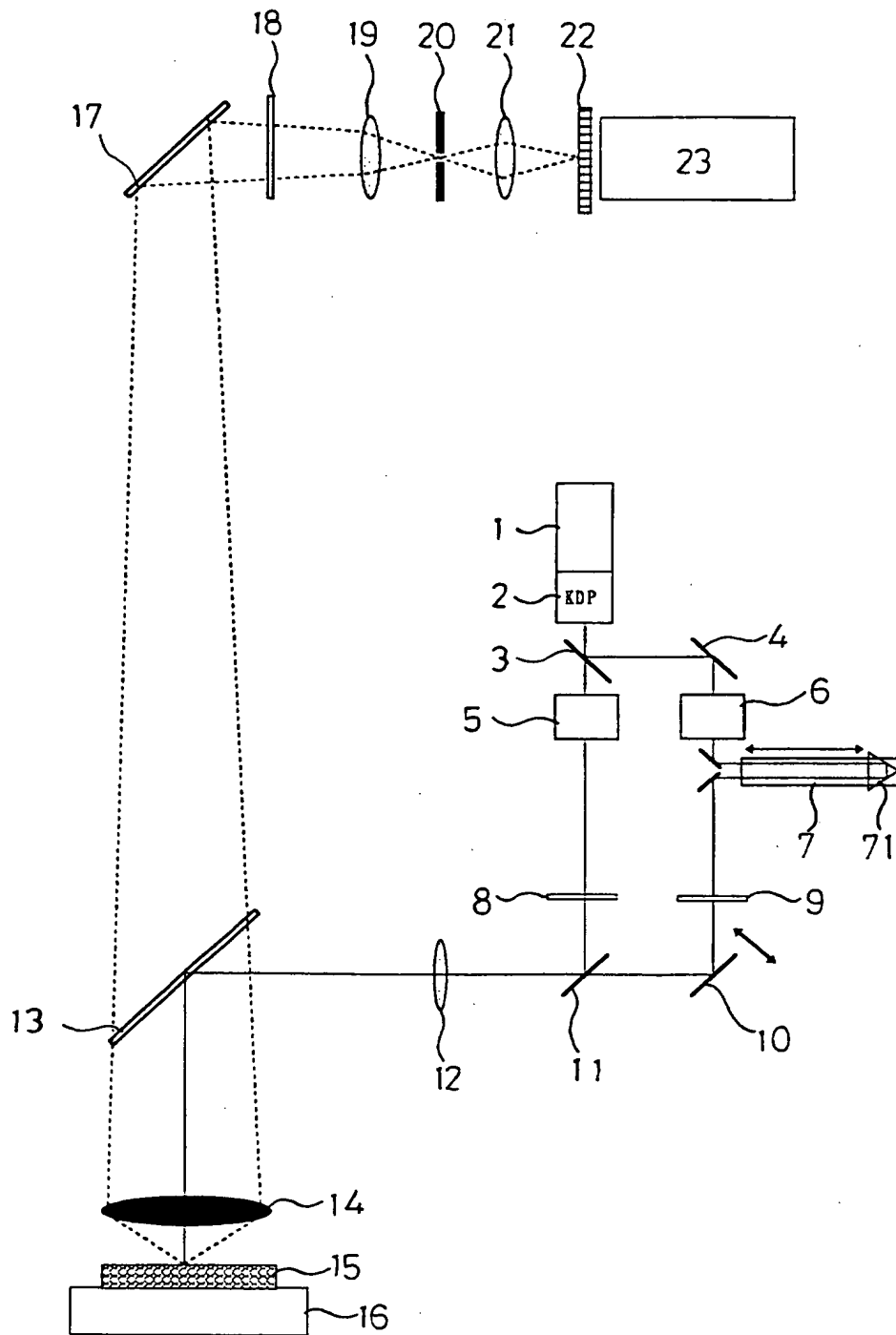
【図 8】



【図9】



【図 1 0】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 パルス光源を用いた場合においても蛍光現象のみによる蛍光相関関数を的確に計測することのできる、新しい蛍光相関法を提供する。

【手段手段】 パルス励起光を試料上に集光しながら、試料に対してパルス励起光を相対的に位置操作して各操作位置における蛍光相関関数を測定する場合において、蛍光発光が存在しない計測時間帯の信号成分を蛍光相関関数から除いて演算する。

【選択図】 なし

【書類名】 手続補正書

【提出日】 平成12年 4月19日

【あて先】 特許庁長官殿

【事件の表示】

【出願番号】 特願2000- 85368

【補正をする者】

【識別番号】 000000376

【氏名又は名称】 オリnbas光学工業株式会社

【補正をする者】

【識別番号】 500130036

【氏名又は名称】 株式会社日本ローパー

【代理人】

【識別番号】 100093230

【弁理士】

【氏名又は名称】 西澤 利夫

【電話番号】 03-5454-7191

【手続補正 1】

【補正対象書類名】 特許願

【補正対象項目名】 提出物件の目録

【補正方法】 追加

【補正の内容】

【提出物件の目録】

【物件名】 委任状 2

【援用の表示】 平成12年4月19日提出の

特願2000-82893手続補正書に添付した

委任状を援用

(B)20000780073



委 任 状

平成12年3月14日

私は、

識別番号100093230(弁理士)西澤利夫氏

を以て代理人として下記事項を委任します。

特願 2000-82893 及び 特願 2000-85368

1. 特許出願(発明の名称:二重共鳴吸収顕微鏡)に関する手続  
(発明の名称:蛍光相関法)

1. 上記出願又は平成 年 願 第 号に基づく

特許法第41条第1項又は実用新案法第8条第1項の規定による優先権の主張  
及びその取下げ

1. 上記出願に関する出願の変更、出願の放棄及び出願の取下げ

1. 上記出願に関する拒絶査定に対する審判の請求

1. 上記出願に関する補正の却下の決定に対する審判の請求

1. 上記出願に係る特許権、実用新案権、意匠権、商標権又は防護標章登録に  
基づく権利及びこれらに関する権利に関する手続(権利維持の管理について  
は除く)並びにこれらの権利の放棄

1. 上記出願に係る特許に対する特許異議の申立て又は商標(防護標章)登録  
に対する登録異議の申立てに関する手続

1. 上記出願に係る特許、特許権の存続期間の延長登録、意匠登録、商標登録、  
防護標章登録又は商標(防護標章)更新登録に対する無効審判の請求に関す  
る手続

1. 上記出願に係る特許権に関する訂正の審判の請求

1. 上記出願に係る商標登録に対する取消しの審判の請求に関する手続

1. 上記各項の手続に関する請求の取下げ、申請の取下げ又は申立ての取下げ

1. 上記各項に関し行政不服審査法に基づく諸手続をなすこと

1. 上記各項の手続を処理するため、復代理人を選任及び解任すること

住 所

名 称

東京都渋谷区桜丘町2丁目43番2号

オリンパス光学工業株式会社

代 表 者 代表取締役社長 岸本正壽





委 任 状

平成 12 年 3 月 23 日

私は、

識別番号100093230（弁理士）西 澤 利 夫 氏  
を以て代理人として下記事項を委任します。

1. 特願 2000-82893 特許出願 及び 特願 2000-85368 特許出願 に関する手続
1. 上記出願又は平成 年 願 第 号に基づく  
特許法第41条第1項又は実用新案法第8条第1項の規定による優先権の主張  
及びその取下げ
1. 上記出願に関する出願の変更、出願の放棄及び出願の取下げ
1. 上記出願に関する拒絶査定に対する審判の請求
1. 上記出願に関する補正の却下の決定に対する審判の請求
1. 上記出願に係る特許権、実用新案権、意匠権、商標権又は防護標章登録に  
基づく権利及びこれらに関する権利に関する手続（権利維持の管理について  
は除く）並びにこれらの権利の放棄
1. 上記出願に係る特許に対する特許異議の申立て又は商標（防護標章）登録  
に対する登録異議の申立てに関する手続
1. 上記出願に係る特許、特許権の存続期間の延長登録、意匠登録、商標登録、  
防護標章登録又は商標（防護標章）更新登録に対する無効審判の請求に関す  
る手続
1. 上記出願に係る特許権に関する訂正の審判の請求
1. 上記出願に係る商標登録に対する取消しの審判の請求に関する手続
1. 上記各項の手続に関する請求の取下げ、申請の取下げ又は申立ての取下げ
1. 上記各項に関し行政不服審査法に基づく諸手続をなすこと
1. 上記各項の手続を処理するため、復代理人を選任及び解任すること

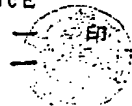
住 所

名 称

〒261-8501 千葉市美浜区中瀬1-3  
D-10E

代 表 者

株式会社 日本ローパー  
代表取締役 酒 井 弘 一



認定・付加情報

特許出願の番号	特願2000-085368
受付番号	20000780073
書類名	手続補正書
担当官	大井手 正雄 4103
作成日	平成12年 6月14日

<認定情報・付加情報>

【提出された物件の記事】

【提出物件名】	委任状（代理権を証明する書面）	1
---------	-----------------	---

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [ 0 0 0 0 0 0 3 7 6 ]

1. 変更年月日	1 9 9 0 年 8 月 2 0 日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号
氏 名	オリンパス光学工業株式会社

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [396020800]

1. 変更年月日	1998年 2月24日
[変更理由]	名称変更
住 所	埼玉県川口市本町4丁目1番8号
氏 名	科学技術振興事業団

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [500130036]

1. 変更年月日 2000年 3月23日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 千葉県千葉市美浜区中瀬1-3  
氏 名 株式会社日本ローパー